

09/463801

Bioactive capsule has multi-layered sheath of variable porosity

N

Publication number: DE19519804**Publication date:** 1996-12-05**Inventor:** SCHREZENMEIR JUERGEN DR (DE);
POMMERSHEIM RAINER DIPL ING (DE); VOGT
WALTER DR (DE)**Applicant:** SCHREZENMEIR JUERGEN DR (DE);
POMMERSHEIM RAINER DIPL ING (DE); VOGT
WALTER DR (DE)**Classification:****- international:** A61K9/48; A61K9/50; A61K9/52; B01J13/02;
C12N11/04; A61K9/48; A61K9/50; A61K9/52;
B01J13/02; C12N11/00; (IPC1-7): C12N11/04;
A61K9/48; B01J13/02**- european:** A61K9/48Z; A61K9/50K; B01J13/02; C12N11/04**Application number:** DE19951019804 19950531**Priority number(s):** DE19951019804 19950531**Also published as:**

EP0782853 (A2)

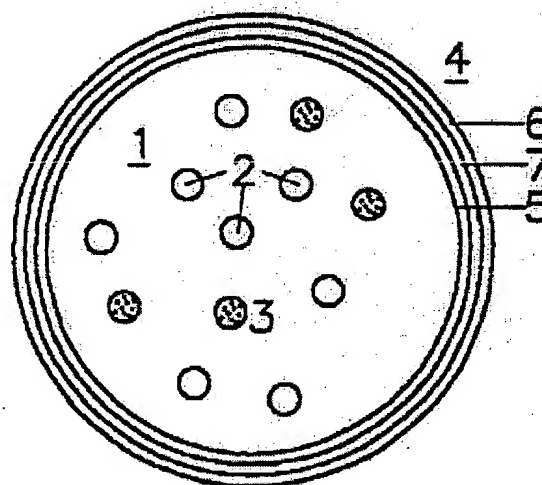
EP0782853 (A3)

EP0782853 (B1)

Report a data error here

Abstract of DE19519804

Bioactive capsule, esp. for installation in a living tissue or for biotechnical use, has a core which contains living cells and/or enzymes and a multi-layered sheath which completely encloses the core. The sheath consists of a porous mesh of flocculated macromolecules. The novelty is that at least 1 layer (7) of the sheath is dissolved or eroded by the action of ionic concn., physical size and/or reagents, causing pores in the structure of the sheath to open, close or change in dia. The max. passage width of the pores is larger than or the same size as the largest cells or enzymes enclosed in the core, to allow them, or their molecular prods., to pass through the sheath.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

Babel Fish Translation

[Help](#)

In English:

Description OF DE19519804 The invention refers to an bioactive cap, in particular to the employment into living fabric or with biotechnological applications, with living cells and/or enzymes a containing core and a covering, which are composed of several, the core completely in each case enclosing monolayers, as well as those from a porous network interlaced with one another macromolecule exists procedures for its production and application. Bioactive caps are used to facilitate in order to immobilize living or liveless biological material, particularly cells and enzymes, their function outside of the natural environment on a long-term basis upright too received and their handling. Such necessity for example schen islands exist with Diabetikern, or in the context of biotechnological applications with the employment of the material into the fabric of organisms, approximately for the assumption of the function of long Hans of the min. The bioactive cap is provided with a covering, which includes contained the material in the core and stabilized as well as semipermeable diaphragm work during materials, which become umgese in the core or are necessary the maintenance of its function, are to pass the covering as unhindered as possible, must the aggressive components in a bioreactor or an immune system, as defense cells or anti-bodies are kept away, from the core, so that it is not completely destroyed or impaired in its function at least. Beyond a given mechanical stability and permeability a multiplicity of further requirements exists to the covering of the cap. Their manufacturing process has to run off so carefully that the enclosed material is not damaged. Further the covering material must be both with the enclosed cells or enzymes and, in particular with the implantation into alive fabric, with the environment vertraegl and may by it attacked will-will those different tasks not leave with an bioactive cap to fulfill favourably, whose covering covers several monolayers, those from a network interlaced with one another of macromolecules developed is in each case (DE-OS 43 12 970) the individual layers optimizes the function of the covering in each case regarding a particular or few requirements, i.e. the mechanical stability, which fabric compatibility or the permeability of the covering become by different

layers obtained. In the state of the art however the disadvantage exists that the characteristics of the cap covering are given with its production and with exception of a complete destruction in run the employment are not changeable. Often however the requirement exists to produce a material on supply and it as required, approximately with a certain production step set free. This possibility is not given with the well-known bioactive caps. Before this background the invention placed itself to the task to indicate an bioactive cap as a multilevel covering whose permeability is purposefully changeable in the process of the employment. This task is solved according to invention by the fact that at least one of the layers consists of a material, which changes or dissolves the structure as function of an ion concentration and/or physical dimension and/or by reagents that due to the structural change pores, which connect the core of the cap with their environment are opened, closed or changed in its diameter and that the maximum passage width of the pores is more largely or equal the largest, to the supply in the core contained of the cells and/or the enzymes supplied and/or by them produced molecules. Living cells and/or enzymes the containing core of the suggested bioactive cap is by a covering surrounded, whose monolayers from a porous network interlaced with one another of macromolecules are developed. Mindeste one of the layers is completely dissolvable or in their structure variable, as physical dimension or the cap surrounding concentrations of ions or not ionischen reagents are varied. About it is possible to change also in the cap inside arranged layers chemically in its structure if the affecting ions or molecules are so small that they penetrate into the porous covering. Due to the structural change continuous pores, which connect the core of the cap with their environment, are opened, closed or in their diameter change through the purposeful influence of the void structure can be steered paying inside the cap of produced materials or the penetration of substances into the core. Particularly in the latter case the connection can be made also between the core and outside, special substances a containing covering, without pores between the core and the outside environment of the cap in their closest diameter are changed. In order to guarantee the operability of the bioactive cap on a long-term basis, it is necessary that the passage width of the pores, which connect the K with the

different permeability

outside environment of the cap is adjustable more largely or equal the largest, for the supply of the cells contained in the core needed and/or the enzymes supplied molecules. Likewise the maximum pore diameter must permit the delivery of all produced molecules. The variable covering structure extends the areas of application of the bioactive cap according to invention compared with conventional caps substantially, whereby all past application type remain. In particular it permits the more, schichtige structure to the covering further to stop the characteristics set up requirements flexibly. The Veraenderbarkei of the structure makes an adjustment for the function possible of the cap at changes in the environment, in which she works. Depending upon used variable layer the function adjustment takes place via an active interference of the user, i.e. e.g. the laminated structure affecting material is delivered into the medium, in which the cap is, or which laminated structure adapts automatically to the requirements. An example of the latter case is a cap, whose cladding structure is changed by by it a processed or with this material standing by a chemical gleichgewichtsreaktion in connection. The cap cannot only deliver in its inside produced substances at an arbitrarily selectable time into the environment, but or convert it also determines extract substances from her into other materials. Thus the suggested bioactive cap is characterised by the fact that it is the possibility of an active interference in in its inside or its environment reactions running off open or automatic to their control in the situation. In a preferential arrangement its covering contains Polyelektrolytkomplexe of the bioactive cap. They permit the structure biologically well more compatibly, easy, of stable layers with very small thicknesses and an adjustable pore diameter, whereby combinations of Polyanionen, which can be manufactured, about polyacrylsaeure, Polykationen, e.g. Polyethylenimin, and/or neutral polymers are possible. There the change of the mesh size of a Polyelektrolytschicht with changes of further characteristics, for example the degree of expansion, i.e. the portion in the layer of contained water, or the mechanical firmness, accompanies, exists in this case additional influence possibilities for the covering structure. The influence of the structure of the variable layer is appropriate by the concentration of a solved salt in the cap environment. This applies in the special, if in the structure of covering

polymer

Polyelektrolytkomplexe are involved, since during the komplexbildung obtained by Coulomb forces the charges of the ionischen groups at the macromolecular chains stand in the competition with de of the salt ions. Due to its the formation of the Polyelektrolytkomplexe can be prevented by salts in sufficient concentration or cancelled and thus the laminated structure changed. The special advantage consists of the fact that each complex specifically reacts to certain salt concentrations and kinds in its environment, so that with layers from different Polyelektrolytkomplexen salt additions or distances the permeability of certain layers change one aimed have similar influence as the salt ions hydroxide and Hydroniumionen, so that also the pH value of the environment solution is suitable for the influence de Schichtstruktur. Physical dimension, by which the structure of a layer is influenceable, are in particular the temperature or the beam of light. For example polymers with Azogruppen Konformationsaenderungen show with beam of light, which change the permeability of the cap diaphragm and to a simple and direct controlling of the cap are usable. Likewise changes of shape of the polymer molecules can be used due to temperature variations for the influence of the covering structure, whereby e.g. the possibility of a change of permeability of the covering opens macromolecules with Polyisopropylacrylamidgruppen at temperature temperatures within the physiological range, which is particularly favourable regarding the biological processes which can be affected. If the change of the laminated structure is reversible, the effect of the bioactive cap leaves itself over longer time away and repeats to steer. With appropriate choice of the layer components reversible structural changes can be reached with all control parameters discussed above. Beyond that it is intended that the structure of a layer is variable by enzymes, whereby the change can exist also in its complete dismantling. As example here the dismantling of a layer from Hyaluronsaeure Polykationkomplexen is mentioned by Hyaluronidase. A simple change of the cladding permeability is attainable also in this way, which is usually irreversible however. The different possibilities of the layer influence are individual or also in arbitrary combinations applicable, so that large variety of controllability for the bioactive cap is present. Depending upon the demands made against it exhibits the cap prefers ball or plattenfoermige

shape. While a kugelgestalt, which worked particularly with micro caps, minimizes the surface of the cap, she is maximized by a plattenfoermige shape, which is suitable preferably for caps with larger core volume. The latter is of advantage e.g. if the caps are arranged with a biotechnological application on a carrier surface and are the working medium as large a surface as possible to darbieten. Alternatively it is suggested that the cap exhibits the shape of a hollow cylinder, whereby the core represents a layer of the cylinder wall, which is externallaterally enclosed by cladding layers both in the direction of the cylinder axle and. In the sense of the invention also a hollow cylinder topologically equivalent shapes are possible, for example a curved, hollow fiber. Such cap shapes permit it, in particular if the coverings exhibit different mesh sizes to the cylinder axle and exterior that the solutions, by which materials are supplied to the core and which are completely from each other separate from it produced materials to take up. In this way purification process can the function of organs be avoided or, how the kidney, copy henceforth the core on the outside and inside of the cylinder media processing can are supplied, which are incompatible with one another. If the core contains substances for the influence or maintenance of the reactions running off in it, then the cap is applicable also in an environment, in which the cells or enzymes included in the core could not work. For example it can be guaranteed by an appropriate iron concentration in the core that made available on iron instructed micro organisms get this if the cap rules in an environment, which contains iron-binding substances. Brought with a favourable procedure for the production of an bioactive cap the components, thus cells and/or enzymes which can be included in the core as well as feed if necessary or preferably Natriumalginat, and blended auxiliary materials, into a polymer, with it. In the following the core in form of the intended cap shape, about a hollow cylinder is formed. For this purpose a cross-linking, which stabilizes the shape of the polymer, takes place e.g. in a mold or via pressing the suspension out via one been suitable formed nozzle in a Faellbad. Finally applying the cladding layers of the core takes place in well-known way. This procedure offers those to advantage that bioactive caps with arbitrary shapes can be manufactured, by which different requirements is fulfillable, while the cap form with that so far admitted

of manufacturing processes on a ball or a drop is fixed. If the structure of a layer of the bioactive cap is irreversibly changed or the layer completely destroyed, then s lets the original covering permeability repair, as an additional layer is applied on the outside surface of the cap, if the pore diameter of the layer was not irreversibly reduced. The additional layer is applied in the same way, as the irreversibly changed layer, and exhibits the the same or one to it similar structure, so that it can take over their function. The structure in relation to the layer which can be replaced slightly to vary is for instance appropriate for the reconciliation of a total thickness of the covering or different transition coefficients between the again applied and the underlying layer, possibly grown. An additional preference/advantage of the bioactive cap according to invention consists of it that it can be used for it, transporting substances by ranges which affect or by them are affected the substance in unwanted way. For this purpose first the covering permeability of the cap is stopped in such a manner that the substance arrives into the core, and afterwards so far decreased that it is enclosed in the cap core and no unwanted materials arrive there. In this form the cap is brought to the place of destination, whereby due to D of reduced pore diameter it is ensured that the transported substances do not contaminate or thereby destroy the surrounding medium. At the place of destination the cladding permeability is increased by extension of the pores, so that the substance from the core is paid. Further details, characteristics and advantages of the invention can be inferred the following description part, in which on the basis the design a remark example of the invention is more near described. The design shows in principleful representation: Fig. 1 cut by an bioactive cap according to invention. Fig. 2 function mode the core wrapping layers. The core (1) in Fig. 1 represented bioactive cap contains cells and/or enzymes (2) as well as nutrients (3) as active components, which are missing in the surrounding medium of the reactor or cannot not by the covering (1) into the core penetrate, but are necessary for the maintenance in their reactions running off. The covering consists of several layers, which enclose the core (1) completely. By this multilevelness a flexible adjustment is attainable to the respective requirements, whereby the internal layer is compatible (5) with the cells and/or enzymes (2) contained in the core, while the

outside layer (6) is adapted to the surrounding medium (4). Between both is a layer (7), variable in their structure. The impact of the variable layer shows Fig. 2. In contrast to the internal layer (5) and outside layer (6), whose pores (8) a firm diameter exhibit, are variable the diameters of the pores (9) in the variable layer (7). Takes place the influence pore diameters via addition or removing from metal ions (ME). The variation of the pore diameter has the consequence that in the core (1) produced molecules (10) only then by the pores (8, 9) of the covering into the environment (4) of the reactor to arrive to be able, if the concentration of the metal ions (ME) is so constituted that the diameter of the pores is sufficiently large (9). In this way a purposeful payment of the molecules (10) from the bioactive cap can be reached by change of the concentration of the metal ions (ME).



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift
10 DE 195 19 804 A 1

61 Int. Cl.⁸:
C 12 N 11/04
A 61 K 9/48
B 01 J 13/02

21 Aktenzeichen: 195 19 804.2
22 Anmeldetag: 31. 5. 95
43 Offenlegungstag: 5. 12. 96

DE 195 19 804 A 1

71 Anmelder:

Schrezenmeir, Jürgen, Dr., 55128 Mainz, DE;
Pommersheim, Rainer, Dipl.-Ing., 76185 Karlsruhe,
DE; Vogt, Walter, Dr., 65207 Wiesbaden, DE

74 Vertreter:

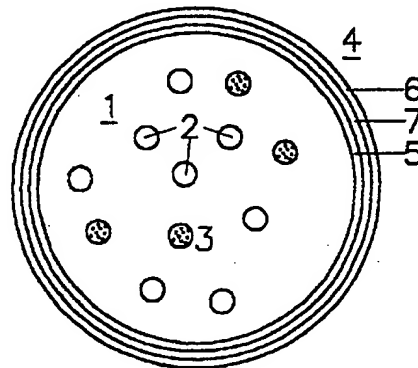
Pöhner, W., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 97070
Würzburg

72 Erfinder:

gleich Anmelder

54 Bioaktive Kapsel mit veränderlicher Hülle

57 Vorgeschlagen wird eine bioaktive Kapsel, insbesondere zum Einsatz in lebendes Gewebe oder bei biotechnologischen Anwendungen, mit einem lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltenden Kern und einer Hülle, die aus mehreren, den Kern jeweils vollständig umschließenden Einzelschichten aufgebaut ist, die aus einem porösen Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle bestehen, sowie ein Verfahren zu ihrer Herstellung und Anwendung, wobei mindestens eine der Schichten aus einem Material besteht, das als Funktion einer Ionenkonzentration und/oder physikalischer Größen und/oder durch Reagenzien die Struktur verändert oder auflöst, infolge der Strukturänderung Poren, die den Kern der Kapsel mit ihrer Umgebung verbinden, geöffnet, geschlossen oder in ihrem Durchmesser verändert werden und die maximale Durchlaßweite der Poren größer oder gleich der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen und/oder den Enzymen zugeführten und/oder von ihnen produzierten Moleküle ist.



DE 195 19 804 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen
BUNDESDRUCKEREI 10. 96 802 049/147

10/26

Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf eine bioaktive Kapsel, insbesondere zum Einsatz in lebendes Gewebe oder bei biotechnologischen Anwendungen, mit einem lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltenden Kern und einer Hülle, die aus mehreren, den Kern jeweils vollständig umschließenden Einzelschichten aufgebaut ist, die aus einem porösen Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle bestehen sowie Verfahren zu ihrer Herstellung und Anwendung.

Bioaktive Kapseln werden eingesetzt, um lebendes oder lebloses biologisches Material, speziell Zellen und Enzyme, zu immobilisieren, ihre Funktion außerhalb der natürlichen Umgebung langfristig aufrecht zu erhalten und ihre Handhabung zu erleichtern. Derartige Notwendigkeiten bestehen beispielsweise beim Einsatz des Materials in das Gewebe von Lebewesen, etwa zur Übernahme der Funktion der Langerhans'schen Inseln bei Diabetikern, oder im Rahmen biotechnologischer Anwendungen. Die bioaktive Kapsel ist mit einer Hülle versehen, die das im Kern enthaltene Material einschließt und stabilisiert sowie als semipermeable Membran wirkt. Während Stoffe, die im Kern umgesetzt werden oder zur Aufrechterhaltung seiner Funktion notwendig sind, die Hülle möglichst ungehindert passieren sollen, müssen die aggressiven Komponenten in einem Bioreaktor oder eines Immunsystems, wie Abwehrzellen oder Antikörper, vom Kern ferngehalten werden, damit er nicht vollständig zerstört oder in seiner Funktion zumindest beeinträchtigt wird.

Über eine vorgegebene mechanische Stabilität und Durchlässigkeit hinaus besteht eine Vielzahl weiterer Anforderungen an die Hülle der Kapsel. Ihr Herstellungsverfahren hat so schonend abzulassen, daß das eingeschlossene Material nicht geschädigt wird. Weiterhin muß das Hüllmaterial sowohl mit den eingeschlossenen Zellen oder Enzymen als auch, insbesondere bei der Implantation in lebendiges Gewebe, mit der Umgebung verträglich sein und darf durch sie nicht angegriffen werden. Die verschiedenen Aufgaben lassen sich vorteilhaft mit einer bioaktiven Kapsel erfüllen, deren Hülle mehrere Einzelschichten umfaßt, die jeweils aus einem Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle aufgebaut sind (DE-OS 43 12 970). Die einzelnen Schichten optimieren die Funktion der Hülle jeweils im Hinblick auf eine einzelne oder wenige Anforderungen, d. h. die mechanische Stabilität, die Gewebeverträglichkeit oder die Durchlässigkeit der Hülle werden durch unterschiedliche Schichten erzielt.

Im Stande der Technik besteht jedoch der Nachteil, daß die Eigenschaften der Kapselhülle bei ihrer Produktion vorgegeben werden und mit Ausnahme einer vollständigen Zerstörung im Verlaufe des Einsatzes nicht veränderbar sind. Vielfach besteht jedoch der Anspruch, einen Stoff auf Vorrat zu produzieren und ihn nach Bedarf, etwa bei einem bestimmten Produktionsschritt, freizusetzen. Diese Möglichkeit ist bei den bekannten bioaktiven Kapseln nicht gegeben.

Vor diesem Hintergrund hat sich die Erfindung zur Aufgabe gestellt, eine bioaktive Kapsel mit einer mehrschichtigen Hülle anzugeben, deren Permeabilität im Verlauf des Einsatzes gezielt veränderbar ist.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß mindestens eine der Schichten aus einem Material besteht, das als Funktion einer Ionenkonzentration und/oder physikalischer Größen und/oder durch Reagenzien die Struktur verändert oder auflöst, daß infolge der

Strukturänderung Poren, die den Kern der Kapsel mit ihrer Umgebung verbinden, geöffnet, geschlossen oder in ihrem Durchmesser verändert werden und daß die maximale Durchlaßweite der Poren größer oder gleich der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen und/oder den Enzymen zugeführten und/oder von ihnen produzierten Moleküle ist.

Der lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltende Kern der vorgeschlagenen bioaktiven Kapsel ist von einer Hülle umgeben, deren Einzelschichten aus einem porösen Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle aufgebaut sind. Mindestens eine der Schichten ist vollständig auflösbar oder in ihrer Struktur veränderlich, indem physikalische Größen oder die Kapsel umgebende Konzentrationen von Ionen oder nicht ionischen Reagenzien variiert werden. Dabei ist es möglich, auch im Kapselinneren angeordnete Schichten chemisch in ihrer Struktur zu verändern, wenn die beeinflussenden Ionen oder Moleküle so klein sind, daß sie in die poröse Hülle eindringen. Infolge der Strukturänderung werden durchgehende Poren, die den Kern der Kapsel mit ihrer Umgebung verbinden, geöffnet, geschlossen oder in ihrem Durchmesser verändert. Durch die gezielte Beeinflussung der Porenstruktur läßt sich das Ausschütten im Inneren der Kapsel produzierter Stoffe oder das Eindringen von Substanzen in den Kern steuern. Speziell im letzteren Fall kann die Verbindung auch zwischen dem Kern und einer äußeren, spezielle Substanzen enthaltenden Hülle hergestellt werden, ohne daß Poren zwischen dem Kern und der äußeren Umgebung der Kapsel in ihrem engsten Durchmesser verändert werden. Um die Funktionsfähigkeit der bioaktiven Kapsel langfristig sicherzustellen, ist es nötig, daß die Durchlaßweite der Poren, die den Kern mit der äußeren Umgebung der Kapsel verbinden, größer oder gleich der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen benötigten und/oder den Enzymen zugeführten Molekülen einstellbar ist. Ebenso muß der maximale Porendurchmesser die Abgabe aller produzierten Moleküle gestatten.

Die veränderliche Hüllenstruktur erweitert die Einsatzbereiche der erfindungsgemäßen bioaktiven Kapsel im Vergleich zu herkömmlichen Kapseln wesentlich, wobei alle bisherigen Einsatzmöglichkeiten erhalten bleiben. Insbesondere erlaubt es die mehr, schichtige Struktur der Hülle weiterhin, die Eigenschaften aufgestellten Anforderungen flexibel einzustellen. Die Veränderbarkeit der Struktur ermöglicht eine Anpassung der Funktion der Kapsel an Veränderungen in dem Milieu, in dem sie arbeitet.

Je nach verwendeter veränderlicher Schicht erfolgt die Funktionsanpassung durch einen aktiven Eingriff des Anwenders, d. h. es wird z. B. ein die Schichtstruktur beeinflussender Stoff in das Medium abgegeben, in dem sich die Kapsel befindet, oder die Schichtstruktur paßt sich selbsttätig an die Erfordernisse an. Ein Beispiel für den letzteren Fall ist eine Kapsel, deren Hüllstruktur durch einen von ihr verarbeiteten oder mit diesem durch eine chemische Gleichgewichtsreaktion in Verbindung stehenden Stoff verändert wird. Die Kapsel kann nicht nur in ihrem Inneren produzierte Substanzen zu einem willkürlich wählbaren Zeitpunkt in die Umgebung abgeben, sondern ihr auch bestimmte Substanzen entziehen oder sie in andere Stoffe umwandeln. Somit zeichnet sich die vorgeschlagene bioaktive Kapsel dadurch aus, daß sie die Möglichkeit eines aktiven Eingriffs in in ihrem Inneren oder ihrer Umgebung ablaufende Reaktionen eröffnet oder selbsttätig zu ihrer

Steuerung in der Lage ist.

In einer bevorzugten Ausgestaltung der bioaktiven Kapsel enthält ihre Hülle Polyelektrolytkomplexe. Sie gestatten den Aufbau biologisch gut verträglicher, leichte herzustellender, stabiler Schichten mit sehr geringen Dicken und einem einstellbaren Porendurchmesser, wobei Kombinationen von Polyanionen, etwa Polyacrylsäure, Polykationen, z. B. Polyethylenimin, und/oder neutralen Polymeren möglich sind. Da die Änderung der Porenweite einer Polyelektrolytschicht mit Veränderungen weiterer Eigenschaften, beispielsweise des Quellungsgrades, d. h. des Anteils in der Schicht enthaltenen Wassers, oder der mechanischen Festigkeit, einhergeht, bestehen in diesem Fall zusätzliche Beeinflussungsmöglichkeiten für die Hüllenstruktur.

Zweckmäßig ist die Beeinflussung der Struktur der veränderlichen Schicht durch die Konzentration eines gelösten Salzes in der Kapselumgebung. Dies gilt im speziellen, wenn am Hüllenaufbau Polyelektrolytkomplexe beteiligt sind, da bei der durch Coulombkräfte vermittelten Komplexbildung die Ladungen der ionischen Gruppen an den makromolekularen Ketten im Wettbewerb mit denen der Salzionen stehen. Infolge dessen läßt sich die Bildung der Polyelektrolytkomplexe durch Salze in ausreichender Konzentration verhindern oder rückgängig machen und damit die Schichtstruktur verändern. Der besondere Vorteil besteht darin, daß jeder Komplex spezifisch auf bestimmte Salzkonzentrationen und -arten in seiner Umgebung reagiert, so daß bei Schichten aus verschiedenen Polyelektrolytkomplexen gezielte Salzzugaben oder -entfernungen die Permeabilität bestimmter Schichten verändern. Einen ähnlichen Einfluß wie die Salzionen haben Hydroxid- und Hydroniumionen, so daß auch der pH-Wert der Umgebungslösung zur Beeinflussung der Schichtstruktur geeignet ist.

Physikalische Größen, durch die die Struktur einer Schicht beeinflussbar ist, sind insbesondere die Temperatur oder der Lichteinfall. Beispielsweise zeigen Polymere mit Azogruppen Konformationsänderungen bei Lichteinfall, die die Durchlässigkeit der Kapselmembran verändern und zu einer einfachen und direkten Steuerung der Kapsel nutzbar sind. Ebenso lassen sich Gestaltänderungen der Polymermoleküle infolge von Temperaturvariationen zur Beeinflussung der Hüllenstruktur verwenden, wobei z. B. Makromoleküle mit Polyisopropylacrylamidgruppen die Möglichkeit einer Durchlässigkeitsänderung der Hülle bei Temperaturvariationen im physiologischen Bereich eröffnet, die im Hinblick auf die zu beeinflussenden biologischen Prozesse besonders vorteilhaft ist.

Ist die Änderung der Schichtstruktur reversibel, läßt sich die Wirkung der bioaktiven Kapsel über längere Zeit hinweg und wiederholt steuern. Bei entsprechender Wahl der Schichtbestandteile lassen sich mit allen oben besprochenen Steuerparametern reversible Strukturveränderungen erreichen.

Darüber hinaus ist vorgesehen, daß die Struktur einer Schicht durch Enzyme veränderlich ist, wobei die Veränderung auch in ihrem vollständigen Abbau bestehen kann. Als Beispiel sei hier der Abbau einer Schicht aus Hyaluronsäure-Polykationkomplexen durch Hyaluronidase genannt. Auch auf diese Weise ist eine einfache Veränderung der Hülldurchlässigkeit erzielbar, die jedoch in der Regel irreversibel ist.

Die unterschiedlichen Möglichkeiten der Schichtbeeinflussung sind einzeln oder auch in beliebigen Kombinationen einsetzbar, so daß eine große Vielfalt von Kon-

trollmöglichkeiten für die bioaktive Kapsel vorhanden ist.

Je nach den an sie gestellten Anforderungen weist die Kapsel bevorzugt eine kugel- oder plattenförmige Gestalt auf. Während eine Kugelgestalt, die sich speziell bei Mikrokapseln bewährt hat, die Oberfläche der Kapsel minimiert, wird sie durch eine plattenförmige Gestalt, die vorzugsweise für Kapseln mit größerem Kernvolumen geeignet ist, maximiert. Letzteres ist z. B. dann von Vorteil, wenn die Kapseln bei einer biotechnologischen Anwendung auf einer Trägeroberfläche angeordnet sind und dem Arbeitsmedium eine möglichst große Oberfläche darbieten sollen.

Alternativ wird vorgeschlagen, daß die Kapsel die Gestalt eines Hohlzylinders aufweist, wobei der Kern eine Schicht der Zylinderwandung darstellt, die sowohl in Richtung auf die Zylinderachse als auch außenseitig durch Hüllschichten umschlossen ist. Im Sinne der Erfindung sind auch einem Hohlzylinder topologisch äquivalente Gestalten möglich, beispielsweise eine gekrümmte, hohle Faser. Derartige Kapselgestalten gestatten es, insbesondere wenn die Hüllen zur Zylinderachse und -außenseite hin unterschiedliche Porenweiten aufweisen, daß die Lösungen, durch die dem Kern Stoffe zugeführt werden und die von ihm produzierte Stoffe aufnehmen, vollständig voneinander getrennt sind. Auf diese Weise lassen sich Reinigungsprozesse vermeiden oder die Funktion von Organen, wie der Niere, nachbilden. Ferner können dem Kern auf der Außen- und Innenseite des Zylinders Medien zur Verarbeitung zugeführt werden, die miteinander unverträglich sind.

Enthält der Kern Substanzen zur Beeinflussung oder Aufrechterhaltung der in ihm ablaufenden Reaktionen, so ist die Kapsel auch in einem Milieu einsetzbar, in dem die im Kern eingeschlossenen Zellen oder Enzyme nicht arbeiten könnten. Beispielsweise kann durch eine entsprechende Eisenkonzentration im Kern sichergestellt werden, daß auf Eisen angewiesene Mikroorganismen dieses selbst dann zur Verfügung gestellt bekommen, wenn sich die Kapsel in einer Umgebung befindet, die eisenbindende Substanzen beinhaltet.

Bei einem vorteilhaften Verfahren zur Herstellung einer bioaktiven Kapsel werden die im Kern einzuschließenden Komponenten, also Zellen und/oder Enzyme sowie gegebenenfalls Nähr- oder Hilfsstoffe, in ein Polymer, vorzugsweise Natriumalginate, eingebracht und mit ihm vermengt. Nachfolgend wird der Kern in Form der vorgesehenen Kapselgestalt, etwa einem Hohlzylinder, geformt. Zu diesem Zweck erfolgt eine Vernetzung, die die Gestalt des Polymers stabilisiert, z. B. in einer Gußform oder durch Auspressen der Suspension durch eine geeignet geformte Düse in ein Fällbad. Abschließend erfolgt das Aufbringen der Hüllschichten des Kerns auf bekannte Weise. Dieses Verfahren bietet die Vorteile, daß sich bioaktive Kapseln mit beliebigen Gestalten herstellen lassen, durch die unterschiedliche Anforderungen erfüllbar sind, während die Kapselform bei den bisher bekannten Herstellungsverfahren auf eine Kugel oder einen Tropfen festgelegt ist.

Ist die Struktur einer Schicht der bioaktiven Kapsel irreversibel verändert oder die Schicht vollständig zerstört, so läßt sich die ursprüngliche Hüllendurchlässigkeit wieder herstellen, indem eine zusätzliche Schicht auf die äußere Oberfläche der Kapsel aufgebracht wird, sofern der Porendurchmesser der Schicht nicht irreversibel verringert wurde. Die zusätzliche Schicht wird auf die gleiche Weise aufgebracht, wie die irreversibel veränderte Schicht, und weist die gleiche oder eine zu ihr

ähnliche Struktur auf, so daß sie deren Funktion übernehmen kann. Die Struktur gegenüber der zu ersetzenden Schicht geringfügig zu variieren ist etwa zum Ausgleich einer eventuell gewachsenen Gesamtdicke der Hülle oder unterschiedlicher Übergangskoeffizienten zwischen der neu aufgetragenen und der unterliegenden Schicht zweckmäßig.

Ein zusätzlicher Vorzug der erfindungsgemäßen bioaktiven Kapsel besteht darin, daß sie sich dazu verwenden läßt, Substanzen durch Bereiche zu transportieren, die die Substanz in unerwünschter Weise beeinflussen oder durch sie beeinflußt werden. Zu diesem Zweck wird zunächst die Hüllendurchlässigkeit der Kapsel derart eingestellt, daß die Substanz in den Kern gelangt, und anschließend so weit vermindert, daß sie im Kapselkern eingeschlossen ist und keine unerwünschten Stoffe dorthin gelangen. In dieser Form wird die Kapsel zum Bestimmungsort gebracht, wobei infolge des verringerten Porendurchmessers gewährleistet ist, daß die transportierten Substanzen das umgebende Medium nicht verunreinigen oder hierdurch zerstören. Am Bestimmungsort wird die Hüllendurchlässigkeit durch Erweiterung der Poren erhöht, so daß die Substanz aus dem Kern ausgeschüttet wird.

Weitere Einzelheiten, Merkmale und Vorteile der Erfindung lassen sich dem nachfolgenden Beschreibungsteil entnehmen, in dem anhand der Zeichnung ein Ausführungsbeispiel der Erfindung näher erläutert wird. Die Zeichnung zeigt in prinzipienhafter Darstellung:

Fig. 1 Schnitt durch eine erfindungsgemäße bioaktive Kapsel.

Fig. 2 Funktionsweise der den Kern einhüllenden Schichten.

Der Kern (1) der in Fig. 1 dargestellten bioaktiven Kapsel enthält als aktive Komponenten Zellen und/oder Enzyme (2) sowie Nährstoffe (3), die im umgebenden Medium des Reaktors nicht vorhanden sind oder nicht durch die Hülle (1) in den Kern eindringen können, aber zur Aufrechterhaltung der in ihr ablaufenden Reaktionen notwendig sind. Die Hülle besteht aus mehreren Schichten, die den Kern (1) vollständig umschließen. Durch diese Mehrschichtigkeit ist eine flexible Anpassung an die jeweiligen Erfordernisse erzielbar, wobei die innere Schicht (5) mit den im Kern enthaltenen Zellen und/oder Enzymen (2) verträglich ist, während die äußere Schicht (6) an das umgebende Medium (4) angepaßt ist. Zwischen beiden befindet sich eine in ihrer Struktur veränderliche Schicht (7).

Die Wirkungsweise der veränderlichen Schicht zeigt

Fig. 2. Im Gegensatz zur inneren Schicht (5) und äußeren Schicht (6), deren Poren (8) einen festen Durchmesser aufweisen, sind die Durchmesser der Poren (9) in der veränderlichen Schicht (7) variabel. Dabei erfolgt die Beeinflussung des Porendurchmessers durch Zugabe oder Entfernen von Metallionen (Me). Die Variation des Porendurchmessers hat zur Folge, daß im Kern (1) produzierte Moleküle (10) nur dann durch die Poren (8, 9) der Hülle in die Umgebung (4) des Reaktors gelangen können, wenn die Konzentration der Metallionen (Me) so geartet ist, daß der Durchmesser der Poren (9) hinreichend groß ist. Auf diese Weise läßt sich durch Veränderung der Konzentration der Metallionen (Me) eine gezielte Ausschüttung der Moleküle (10) aus der bioaktiven Kapsel erreichen.

Patentansprüche

1. Bioaktive Kapsel, insbesondere zum Einsatz in

lebendes Gewebe oder bei biotechnologischen Anwendungen, mit einem lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltenden Kern und einer Hülle, die aus mehreren, den Kern jeweils vollständig umschließenden Einzelschichten aufgebaut ist, die aus einem porösen Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle bestehen, dadurch gekennzeichnet, daß

— mindestens eine der Schichten (7) aus einem Material besteht, das als Funktion einer Ionenkonzentration und/oder physikalischer Größen und/oder durch Reagenzien die Struktur verändert oder auflöst,

— infolge der Strukturänderung Poren (8, 9), die den Kern der Kapsel mit ihrer Umgebung verbinden, geöffnet, geschlossen oder in ihrem Durchmesser verändert werden

— und die maximale Durchlaßweite der Poren (8, 9) größer oder gleich der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen und/oder den Enzymen zugeführten und/oder von ihnen produzierten Moleküle (11) ist.

2. Kapsel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Schichten (5, 6, 7) der Hülle Polyelektrolytkomplexe enthalten.

3. Kapsel nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Schichten (5, 6, 7) Polyacrylanionen und/oder Polymethacrylanionen und/oder Schwefelsäureester polymerer Kohlenhydrate und/oder Polyethylenimin und/oder Polydimethyldiallylammonium und/oder Chitosan beinhalten.

4. Kapsel nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) durch die Konzentration eines gelösten Salzes in der Kapselumgebung beeinflussbar ist.

5. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) durch den pH-Wert in der Kapselumgebung beeinflussbar ist.

6. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) von ihrer Temperatur abhängig ist.

7. Kapsel nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Schicht (7) Polymere mit Polyisopropylacrylamidgruppen enthält.

8. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) durch Lichteinfall beeinflussbar ist.

9. Kapsel nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Schicht (7) Polymere mit Azogruppen beinhaltet.

10. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Strukturänderung reversibel ist.

11. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) durch Enzyme veränderlich ist.

12. Kapsel nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Schicht (7) Hyaluronsäure- oder Xylankomplexe enthält.

13. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine kugel- oder plattenförmige Gestalt besitzt.

14. Kapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Gestalt eines Hohlzylinders aufweist, wobei der Kern (1) eine Schicht der Zylinderwandung darstellt, die sowohl in Richtung auf die Zylinderachse als auch außen-

seitig durch Hüllschichten umschlossen ist.

15. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Kern (1) Substanzen zur Beeinflussung oder Aufrechterhaltung der in ihm ablaufenden Reaktionen enthält. 5

16. Verfahren zur Herstellung einer bioaktiven Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch folgende Verfahrensschritte:

- Suspension der im Kern (1) einzuschließen- 10
den Komponenten in einem Polymer, vorzugsweise Natriumalginat,
- Formung des Kerns in der gewünschten Gestalt,
- Vernetzung des Polymers, 15
- Aufbringen der Hüllschichten auf bekannte Weise.

17. Verfahren zur Wiederherstellung der Hüllendurchlässigkeit einer bioaktiven Kapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 15, bei dem die Struktur einer 20
Schicht irreversibel verändert ist, dadurch gekennzeichnet, daß eine Schicht, die eine der Ausgangsstruktur der veränderten Schicht (7) gleiche oder zu ihr ähnlichen Struktur aufweist, auf die äußere Oberfläche der Kapsel aufgebracht wird. 25

18. Verfahren zur Verwendung einer bioaktiven Kapsel nach einem der Ansprüche 10 bis 15 für den Transport von Substanzen durch Medien, die die Substanz in unerwünschter Weise beeinflussen oder durch sie beeinflußt werden, gekennzeichnet 30
durch folgende Verfahrensschritte:

- Herstellen eines Kontaktes zwischen Kapseloberfläche und zu transportierender Substanz,
- Einstellung der Hüllendurchlässigkeit derart, daß die Substanz in den Kapselkern gelangt, 35
- Vermindern der Hüllendurchlässigkeit derart, daß die Substanz im Kapselkern eingeschlossen ist und keine unerwünschten Stoffe 40
in den Kern gelangen,
- Transport der Kapsel zum Bestimmungsort,
- Erhöhung der Hüllendurchlässigkeit derart, daß die Substanz aus dem Kern gelangt. 45

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

50

55

60

65

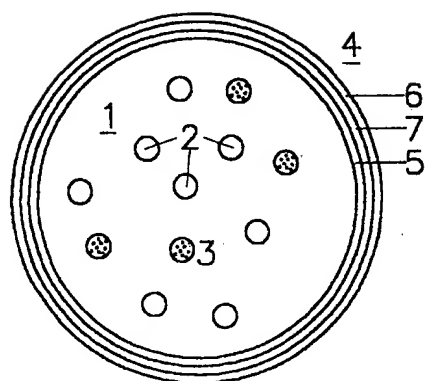


Fig. 1

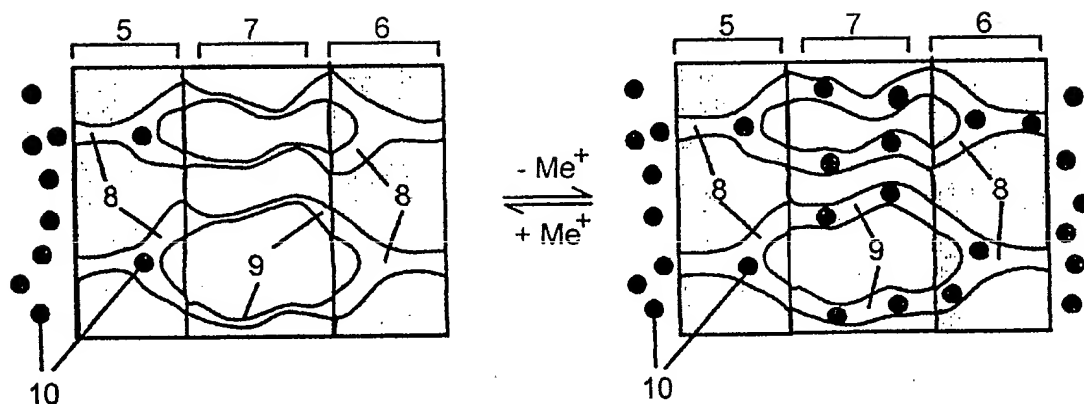


Fig. 2

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift
⑩ DE 195 19 804 A 1

⑤1 Int. Cl.⁶:
C 12 N 11/04
A 61 K 9/48
B 01 J 13/02

②1 Aktenzeichen: 195 19 804.2
②2 Anmeldetag: 31. 5. 95
④3 Offenlegungstag: 5. 12. 96

DE 195 19 804 A 1

⑦1 Anmelder:

Schrezenmeir, Jürgen, Dr., 55128 Mainz, DE;
Pommersheim, Rainer, Dipl.-Ing., 76185 Karlsruhe,
DE; Vogt, Walter, Dr., 65207 Wiesbaden, DE

⑦4 Vertreter:

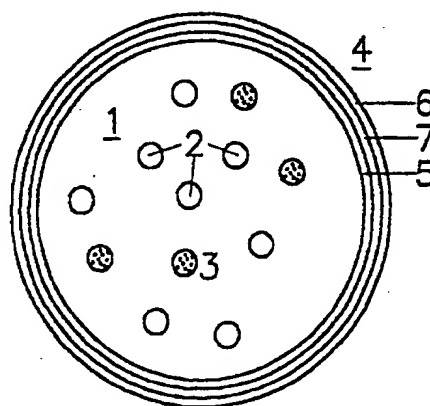
Pöhner, W., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 97070
Würzburg

⑦2 Erfinder:

gleich Anmelder

⑤4 Bioaktive Kapsel mit veränderlicher Hülle

- ⑤7 Vorgeschlagen wird eine bioaktive Kapsel, insbesondere zum Einsatz in lebendes Gewebe oder bei biotechnologischen Anwendungen, mit einem lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltenden Kern und einer Hülle, die aus mehreren, den Kern jeweils vollständig umschließenden Einzelschichten aufgebaut ist, die aus einem porösen Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle bestehen, sowie ein Verfahren zu ihrer Herstellung und Anwendung, wobei mindestens eine der Schichten aus einem Material besteht, das als Funktion einer Ionenkonzentration und/oder physikalischer Größen und/oder durch Reagenzien die Struktur verändert oder auflöst, infolge der Strukturänderung Poren, die den Kern der Kapsel mit ihrer Umgebung verbinden, geöffnet, geschlossen oder in ihrem Durchmesser verändert werden und die maximale Durchlaßweite der Poren größer oder gleich der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen und/oder den Enzymen zugeführten und/oder von ihnen produzierten Moleküle ist.



DE 195 19 804 A 1

Die Erfindung bezieht sich auf eine bioaktive Kapsel, insbesondere zum Einsatz in lebendes Gewebe oder bei biotechnologischen Anwendungen, mit einem lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltenden Kern und einer Hülle, die aus mehreren, den Kern jeweils vollständig umschließenden Einzelschichten aufgebaut ist, die aus einem porösen Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle bestehen sowie Verfahren zu ihrer Herstellung und Anwendung.

Bioaktive Kapseln werden eingesetzt, um lebendes oder lebloses biologisches Material, speziell Zellen und Enzyme, zu immobilisieren, ihre Funktion außerhalb der natürlichen Umgebung langfristig aufrecht zu erhalten und ihre Handhabung zu erleichtern. Derartige Notwendigkeiten bestehen beispielsweise beim Einsatz des Materials in das Gewebe von Lebewesen, etwa zur Übernahme der Funktion der Langerhans'schen Inseln bei Diabetikern, oder im Rahmen biotechnologischer Anwendungen. Die bioaktive Kapsel ist mit einer Hülle versehen, die das im Kern enthaltene Material einschließt und stabilisiert sowie als semipermeable Membran wirkt. Während Stoffe, die im Kern umgesetzt werden oder zur Aufrechterhaltung seiner Funktion notwendig sind, die Hülle möglichst ungehindert passieren sollen, müssen die aggressiven Komponenten in einem Bioreaktor oder eines Immunsystems, wie Abwehrzellen oder Antikörper, vom Kern ferngehalten werden, damit er nicht vollständig zerstört oder in seiner Funktion zumindest beeinträchtigt wird.

Über eine vorgegebene mechanische Stabilität und Durchlässigkeit hinaus besteht eine Vielzahl weiterer Anforderungen an die Hülle der Kapsel. Ihr Herstellungsverfahren hat so schonend abzulaufen, daß das eingeschlossene Material nicht geschädigt wird. Weiterhin muß das Hüllenmaterial sowohl mit den eingeschlossenen Zellen oder Enzymen als auch, insbesondere bei der Implantation in lebendiges Gewebe, mit der Umgebung verträglich sein und darf durch sie nicht angegriffen werden. Die verschiedenen Aufgaben lassen sich vorteilhaft mit einer bioaktiven Kapsel erfüllen, deren Hülle mehrere Einzelschichten umfaßt, die jeweils aus einem Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle aufgebaut sind (DE-OS 43 12 970). Die einzelnen Schichten optimieren die Funktion der Hülle jeweils im Hinblick auf eine einzelne oder wenige Anforderungen, d. h. die mechanische Stabilität, die Gewebeverträglichkeit oder die Durchlässigkeit der Hülle werden durch unterschiedliche Schichten erzielt.

Im Stande der Technik besteht jedoch der Nachteil, daß die Eigenschaften der Kapselhülle bei ihrer Produktion vorgegeben werden und mit Ausnahme einer vollständigen Zerstörung im Verlaufe des Einsatzes nicht veränderbar sind. Vielfach besteht jedoch der Anspruch, einen Stoff auf Vorrat zu produzieren und ihn nach Bedarf, etwa bei einem bestimmten Produktionsschritt, freizusetzen. Diese Möglichkeit ist bei den bekannten bioaktiven Kapseln nicht gegeben.

Vor diesem Hintergrund hat sich die Erfindung zur Aufgabe gestellt, eine bioaktive Kapsel mit einer mehrschichtigen Hülle anzugeben, deren Permeabilität im Verlauf des Einsatzes gezielt veränderbar ist.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß mindestens eine der Schichten aus einem Material besteht, das als Funktion einer Ionenkonzentration und/oder physikalischer Größen und/oder durch Reagenzien die Struktur verändert oder auflöst, daß infolge der

Strukturänderung Poren, die den Kern der Kapsel mit ihrer Umgebung verbinden, geöffnet, geschlossen oder in ihrem Durchmesser verändert werden und daß die maximale Durchlaßweite der Poren größer oder gleich der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen und/oder den Enzymen zugeführten und/oder von ihnen produzierten Moleküle ist.

Der lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltende Kern der vorgeschlagenen bioaktiven Kapsel ist von einer Hülle umgeben, deren Einzelschichten aus einem porösen Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle aufgebaut sind. Mindestens eine der Schichten ist vollständig auflösbar oder in ihrer Struktur veränderlich, indem physikalische Größen oder die Kapsel umgebende Konzentrationen von Ionen oder nicht ionischen Reagenzien variiert werden. Dabei ist es möglich, auch im Kapselinneren angeordnete Schichten chemisch in ihrer Struktur zu verändern, wenn die beeinflussenden Ionen oder Moleküle so klein sind, daß sie in die poröse Hülle eindringen. Infolge der Strukturänderung werden durchgehende Poren, die den Kern der Kapsel mit ihrer Umgebung verbinden, geöffnet, geschlossen oder in ihrem Durchmesser verändert. Durch die gezielte Beeinflussung der Porenstruktur läßt sich das Ausschütten im Inneren der Kapsel produzierter Stoffe oder das Eindringen von Substanzen in den Kern steuern. Speziell im letzteren Fall kann die Verbindung auch zwischen dem Kern und einer äußeren, spezielle Substanzen enthaltenden Hülle hergestellt werden, ohne daß Poren zwischen dem Kern und der äußeren Umgebung der Kapsel in ihrem engsten Durchmesser verändert werden. Um die Funktionsfähigkeit der bioaktiven Kapsel langfristig sicherzustellen, ist es nötig, daß die Durchlaßweite der Poren, die den Kern mit der äußeren Umgebung der Kapsel verbinden, größer oder gleich der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen benötigten und/oder den Enzymen zugeführten Molekülen einstellbar ist. Ebenso muß der maximale Porendurchmesser die Abgabe aller produzierten Moleküle gestatten.

Die veränderliche Hüllenstruktur erweitert die Einsatzbereiche der erfindungsgemäßen bioaktiven Kapsel im Vergleich zu herkömmlichen Kapseln wesentlich, wobei alle bisherigen Einsatzmöglichkeiten erhalten bleiben. Insbesondere erlaubt es die mehr, schichtige Struktur der Hülle weiterhin, die Eigenschaften aufgestellten Anforderungen flexibel einzustellen. Die Veränderbarkeit der Struktur ermöglicht eine Anpassung der Funktion der Kapsel an Veränderungen in dem Milieu, in dem sie arbeitet.

Je nach verwendeter veränderlicher Schicht erfolgt die Funktionsanpassung durch einen aktiven Eingriff des Anwenders, d. h. es wird z. B. ein die Schichtstruktur beeinflussender Stoff in das Medium abgegeben, in dem sich die Kapsel befindet, oder die Schichtstruktur paßt sich selbsttätig an die Erfordernisse an. Ein Beispiel für den letzteren Fall ist eine Kapsel, deren Hüllstruktur durch einen von ihr verarbeiteten oder mit diesem durch eine chemische Gleichgewichtsreaktion in Verbindung stehenden Stoff verändert wird. Die Kapsel kann nicht nur in ihrem Inneren produzierte Substanzen zu einem willkürlich wählbaren Zeitpunkt in die Umgebung abgeben, sondern ihr auch bestimmte Substanzen entziehen oder sie in andere Stoffe umwandeln. Somit zeichnet sich die vorgeschlagene bioaktive Kapsel dadurch aus, daß sie die Möglichkeit eines aktiven Eingriffs in in ihrem Inneren oder ihrer Umgebung ablaufende Reaktionen eröffnet oder selbsttätig zu ihrer

Steuerung in der Lage ist.

In einer bevorzugten Ausgestaltung der bioaktiven Kapsel enthält ihre Hülle Polyelektrolytkomplexe. Sie gestatten den Aufbau biologisch gut verträglicher, leichter herzustellender, stabiler Schichten mit sehr geringen Dicken und einem einstellbaren Porendurchmesser, wobei Kombinationen von Polyanionen, etwa Polyacrylsäure, Polykationen, z. B. Polyethylenimin, und/oder neutralen Polymeren möglich sind. Da die Änderung der Porenweite einer Polyelektrolytschicht mit Veränderungen weiterer Eigenschaften, beispielsweise des Quellungsgrades, d. h. des Anteils in der Schicht enthaltenen Wassers, oder der mechanischen Festigkeit, einhergeht, bestehen in diesem Fall zusätzliche Beeinflussungsmöglichkeiten für die Hüllenstruktur.

Zweckmäßig ist die Beeinflussung der Struktur der veränderlichen Schicht durch die Konzentration eines gelösten Salzes in der Kapselumgebung. Dies gilt im speziellen, wenn am Hüllenaufbau Polyelektrolytkomplexe beteiligt sind, da bei der durch Coulombkräfte vermittelten Komplexbildung die Ladungen der ionischen Gruppen an den makromolekularen Ketten im Wettbewerb mit denen der Salzionen stehen. Infolge dessen läßt sich die Bildung der Polyelektrolytkomplexe durch Salze in ausreichender Konzentration verhindern oder rückgängig machen und damit die Schichtstruktur verändern. Der besondere Vorteil besteht darin, daß jeder Komplex spezifisch auf bestimmte Salzkonzentrationen und -arten in seiner Umgebung reagiert, so daß bei Schichten aus verschiedenen Polyelektrolytkomplexen gezielte Salzzugaben oder -entfernungen die Permeabilität bestimmter Schichten verändern. Einen ähnlichen Einfluß wie die Salzionen haben Hydroxid- und Hydroniumionen, so daß auch der pH-Wert der Umgebungslösung zur Beeinflussung der Schichtstruktur geeignet ist.

Physikalische Größen, durch die die Struktur einer Schicht beeinflussbar ist, sind insbesondere die Temperatur oder der Lichteinfall. Beispielsweise zeigen Polymere mit Azogruppen Konformationsänderungen bei Lichteinfall, die die Durchlässigkeit der Kapselmembran verändern und zu einer einfachen und direkten Steuerung der Kapsel nutzbar sind. Ebenso lassen sich Gestaltänderungen der Polymermoleküle infolge von Temperaturvariationen zur Beeinflussung der Hüllenstruktur verwenden, wobei z. B. Makromoleküle mit Polyisopropylacrylamidgruppen die Möglichkeit einer Durchlässigkeitsänderung der Hülle bei Temperaturvariationen im physiologischen Bereich eröffnet, die im Hinblick auf die zu beeinflussenden biologischen Prozesse besonders vorteilhaft ist.

Ist die Änderung der Schichtstruktur reversibel, läßt sich die Wirkung der bioaktiven Kapsel über längere Zeit hinweg und wiederholt steuern. Bei entsprechender Wahl der Schichtbestandteile lassen sich mit allen oben besprochenen Steuerparametern reversible Strukturveränderungen erreichen.

Darüber hinaus ist vorgesehen, daß die Struktur einer Schicht durch Enzyme veränderlich ist, wobei die Veränderung auch in ihrem vollständigen Abbau bestehen kann. Als Beispiel sei hier der Abbau einer Schicht aus Hyaluronsäure-Polykationkomplexen durch Hyaluronidase genannt. Auch auf diese Weise ist eine einfache Veränderung der Hülldurchlässigkeit erzielbar, die jedoch in der Regel irreversibel ist.

Die unterschiedlichen Möglichkeiten der Schichtbeeinflussung sind einzeln oder auch in beliebigen Kombinationen einsetzbar, so daß eine große Vielfalt von Kon-

trollmöglichkeiten für die bioaktive Kapsel vorhanden ist.

Je nach den an sie gestellten Anforderungen weist die Kapsel bevorzugt eine kugel- oder plattenförmige Gestalt auf. Während eine Kugelgestalt, die sich speziell bei Mikrokapseln bewährt hat, die Oberfläche der Kapsel minimiert, wird sie durch eine plattenförmige Gestalt, die vorzugsweise für Kapseln mit größerem Kernvolumen geeignet ist, maximiert. Letzteres ist z. B. dann von Vorteil, wenn die Kapseln bei einer biotechnologischen Anwendung auf einer Trägoberfläche angeordnet sind und dem Arbeitsmedium eine möglichst große Oberfläche darbieten sollen.

Alternativ wird vorgeschlagen, daß die Kapsel die Gestalt eines Hohlzylinders aufweist, wobei der Kern eine Schicht der Zylinderwandung darstellt, die sowohl in Richtung auf die Zylinderachse als auch außenseitig durch Hüllschichten umschlossen ist. Im Sinne der Erfindung sind auch einem Hohlzylinder topologisch äquivalente Gestalten möglich, beispielsweise eine gekrümmte, hohle Faser. Derartige Kapselgestalten gestatten es, insbesondere wenn die Hüllen zur Zylinderachse und -außenseite hin unterschiedliche Porenweiten aufweisen, daß die Lösungen, durch die dem Kern Stoffe zugeführt werden und die von ihm produzierte Stoffe aufnehmen, vollständig voneinander getrennt sind. Auf diese Weise lassen sich Reinigungsprozesse vermeiden oder die Funktion von Organen, wie der Niere, nachbilden. Ferner können dem Kern auf der Außen- und Innenseite des Zylinders Medien zur Verarbeitung zugeführt werden, die miteinander unverträglich sind.

Enthält der Kern Substanzen zur Beeinflussung oder Aufrechterhaltung der in ihm ablaufenden Reaktionen, so ist die Kapsel auch in einem Milieu einsetzbar, in dem die im Kern eingeschlossenen Zellen oder Enzyme nicht arbeiten könnten. Beispielsweise kann durch eine entsprechende Eisenkonzentration im Kern sichergestellt werden, daß auf Eisen angewiesene Mikroorganismen dieses selbst dann zur Verfügung gestellt bekommen, wenn sich die Kapsel in einer Umgebung befindet, die eisenbindende Substanzen beinhaltet.

Bei einem vorteilhaften Verfahren zur Herstellung einer bioaktiven Kapsel werden die im Kern einzuschließenden Komponenten, also Zellen und/oder Enzyme sowie gegebenenfalls Nähr- oder Hilfsstoffe, in ein Polymer, vorzugsweise Natriumalginate, eingebracht und mit ihm vermischt. Nachfolgend wird der Kern in Form der vorgesehenen Kapselgestalt, etwa einem Hohlzylinder, geformt. Zu diesem Zweck erfolgt eine Vernetzung, die die Gestalt des Polymers stabilisiert, z. B. in einer Gußform oder durch Auspressen der Suspension durch eine geeignet geformte Düse in ein Fällbad. Abschließend erfolgt das Aufbringen der Hüllschichten des Kerns auf bekannte Weise. Dieses Verfahren bietet die Vorteile, daß sich bioaktive Kapseln mit beliebigen Gestalten herstellen lassen, durch die unterschiedliche Anforderungen erfüllbar sind, während die Kapselform bei den bisher bekannten Herstellungsverfahren auf eine Kugel oder einen Tropfen festgelegt ist.

Ist die Struktur einer Schicht der bioaktiven Kapsel irreversibel verändert oder die Schicht vollständig zerstört, so läßt sich die ursprüngliche Hüllendurchlässigkeit wieder herstellen, indem eine zusätzliche Schicht auf die äußere Oberfläche der Kapsel aufgebracht wird, sofern der Porendurchmesser der Schicht nicht irreversibel verringert wurde. Die zusätzliche Schicht wird auf die gleiche Weise aufgebracht, wie die irreversibel veränderte Schicht, und weist die gleiche oder eine zu ihr

ähnliche Struktur auf, so daß sie deren Funktion übernehmen kann. Die Struktur gegenüber der zu ersetzenden Schicht geringfügig zu variieren ist etwa zum Ausgleich einer eventuell gewachsenen Gesamtdicke der Hülle oder unterschiedlicher Übergangskoeffizienten zwischen der neu aufgetragenen und der unterliegenden Schicht zweckmäßig.

Ein zusätzlicher Vorzug der erfindungsgemäßen bioaktiven Kapsel besteht darin, daß sie sich dazu verwenden läßt, Substanzen durch Bereiche zu transportieren, die die Substanz in unerwünschter Weise beeinflussen oder durch sie beeinflußt werden. Zu diesem Zweck wird zunächst die Hüllendurchlässigkeit der Kapsel derart eingestellt, daß die Substanz in den Kern gelangt, und anschließend so weit vermindert, daß sie im Kapselkern eingeschlossen ist und keine unerwünschten Stoffe dorthin gelangen. In dieser Form wird die Kapsel zum Bestimmungsort gebracht, wobei infolge des verringerten Porendurchmessers gewährleistet ist, daß die transportierten Substanzen das umgebende Medium nicht verunreinigen oder hierdurch zerstören. Am Bestimmungsort wird die Hüllendurchlässigkeit durch Erweiterung der Poren erhöht, so daß die Substanz aus dem Kern ausgeschüttet wird.

Weitere Einzelheiten, Merkmale und Vorteile der Erfindung lassen sich dem nachfolgenden Beschreibungsteil entnehmen, in dem anhand der Zeichnung ein Ausführungsbeispiel der Erfindung näher erläutert wird. Die Zeichnung zeigt in prinzipienhafter Darstellung:

Fig. 1 Schnitt durch eine erfindungsgemäße bioaktive Kapsel.

Fig. 2 Funktionsweise der den Kern einhüllenden Schichten.

Der Kern (1) der in Fig. 1 dargestellten bioaktiven Kapsel enthält als aktive Komponenten Zellen und/oder Enzyme (2) sowie Nährstoffe (3), die im umgebenden Medium des Reaktors nicht vorhanden sind oder nicht durch die Hülle (1) in den Kern eindringen können, aber zur Aufrechterhaltung der in ihr ablaufenden Reaktionen notwendig sind. Die Hülle besteht aus mehreren Schichten, die den Kern (1) vollständig umschließen. Durch diese Mehrschichtigkeit ist eine flexible Anpassung an die jeweiligen Erfordernisse erzielbar, wobei die innere Schicht (5) mit den im Kern enthaltenen Zellen und/oder Enzymen (2) verträglich ist, während die äußere Schicht (6) an das umgebende Medium (4) angepaßt ist. Zwischen beiden befindet sich eine in ihrer Struktur veränderliche Schicht (7).

Die Wirkungsweise der veränderlichen Schicht zeigt

Fig. 2. Im Gegensatz zur inneren Schicht (5) und äußeren Schicht (6), deren Poren (8) einen festen Durchmesser aufweisen, sind die Durchmesser der Poren (9) in der veränderlichen Schicht (7) variabel. Dabei erfolgt die Beeinflussung des Porendurchmessers durch Zugabe oder Entfernen von Metallionen (Me). Die Variation des Porendurchmessers hat zur Folge, daß im Kern (1) produzierte Moleküle (10) nur dann durch die Poren (8, 9) der Hülle in die Umgebung (4) des Reaktors gelangen können, wenn die Konzentration der Metallionen (Me) so geartet ist, daß der Durchmesser der Poren (9) hinreichend groß ist. Auf diese Weise läßt sich durch Veränderung der Konzentration der Metallionen (Me) eine gezielte Ausschüttung der Moleküle (10) aus der bioaktiven Kapsel erreichen.

Patentansprüche

1. Bioaktive Kapsel, insbesondere zum Einsatz in

lebendes Gewebe oder bei biotechnologischen Anwendungen, mit einem lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltenden Kern und einer Hülle, die aus mehreren, den Kern jeweils vollständig umschließenden Einzelschichten aufgebaut ist, die aus einem porösen Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle bestehen, dadurch gekennzeichnet, daß

— mindestens eine der Schichten (7) aus einem Material besteht, das als Funktion einer Ionenkonzentration und/oder physikalischer Größen und/oder durch Reagenzien die Struktur verändert oder auflöst,

— infolge der Strukturänderung Poren (8, 9), die den Kern der Kapsel mit ihrer Umgebung verbinden, geöffnet, geschlossen oder in ihrem Durchmesser verändert werden

— und die maximale Durchlaßweite der Poren (8, 9) größer oder gleich der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen und/oder den Enzymen zugeführten und/oder von ihnen produzierten Moleküle (11) ist.

2. Kapsel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Schichten (5, 6, 7) der Hülle Polyelektrolytkomplexe enthalten.

3. Kapsel nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Schichten (5, 6, 7) Polyacrylanionen und/oder Polymethacrylanionen und/oder Schwefelsäureester polymerer Kohlenhydrate und/oder Polyethylenimin und/oder Polydimethyldiallylammonium und/oder Chitosan beinhalten.

4. Kapsel nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) durch die Konzentration eines gelösten Salzes in der Kapselumgebung einflußbar ist.

5. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) durch den pH-Wert in der Kapselumgebung einflußbar ist.

6. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) von ihrer Temperatur abhängig ist.

7. Kapsel nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Schicht (7) Polymere mit Polyisopropylacrylamidgruppen enthält.

8. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) durch Lichteinfall einflußbar ist.

9. Kapsel nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Schicht (7) Polymere mit Azogruppen beinhaltet.

10. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Strukturänderung reversibel ist.

11. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Struktur einer Schicht (7) durch Enzyme veränderlich ist.

12. Kapsel nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Schicht (7) Hyaluronsäure- oder Xylankomplexe enthält.

13. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine kugel- oder plattenförmige Gestalt besitzt.

14. Kapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Gestalt eines Hohlzylinders aufweist, wobei der Kern (1) eine Schicht der Zylinderwandung darstellt, die sowohl in Richtung auf die Zylinderachse als auch außen-

seitig durch Hüllschichten umschlossen ist.

15. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Kern (1) Substanzen zur Beeinflussung oder Aufrechterhaltung der in ihm ablaufenden Reaktionen enthält. 5

16. Verfahren zur Herstellung einer bioaktiven Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch folgende Verfahrensschritte:

- Suspension der im Kern (1) einzuschließenden Komponenten in einem Polymer, vorzugsweise Natriumalginat, 10
- Formung des Kerns in der gewünschten Gestalt,
- Vernetzung des Polymers, 15
- Aufbringen der Hüllschichten auf bekannte Weise.

17. Verfahren zur Wiederherstellung der Hüllendurchlässigkeit einer bioaktiven Kapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 15, bei dem die Struktur einer Schicht irreversibel verändert ist, dadurch gekennzeichnet, daß eine Schicht, die eine der Ausgangsstruktur der veränderten Schicht (7) gleiche oder zu ihr ähnlichen Struktur aufweist, auf die äußere Oberfläche der Kapsel aufgebracht wird. 20 25

18. Verfahren zur Verwendung einer bioaktiven Kapsel nach einem der Ansprüche 10 bis 15 für den Transport von Substanzen durch Medien, die die Substanz in unerwünschter Weise beeinflussen oder durch sie beeinflußt werden, gekennzeichnet durch folgende Verfahrensschritte: 30

- Herstellen eines Kontaktes zwischen Kapseloberfläche und zu transportierender Substanz,
- Einstellung der Hüllendurchlässigkeit derart, daß die Substanz in den Kapselkern gelangt, 35
- Vermindern der Hüllendurchlässigkeit derart, daß die Substanz im Kapselkern eingeschlossen ist und keine unerwünschten Stoffe in den Kern gelangen, 40
- Transport der Kapsel zum Bestimmungsort,
- Erhöhung der Hüllendurchlässigkeit derart, daß die Substanz aus dem Kern gelangt. 45

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

45

50

55

60

65

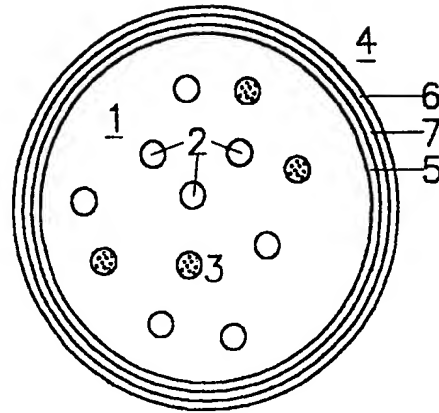


Fig. 1

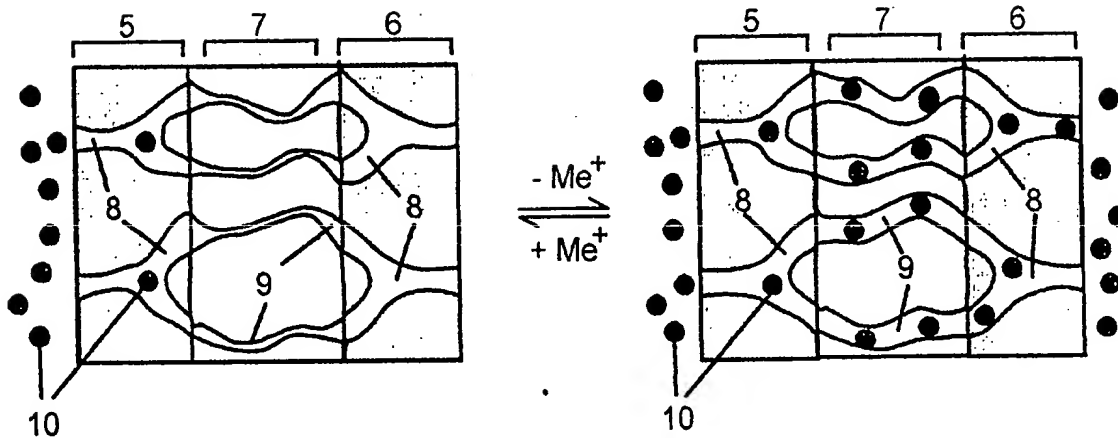



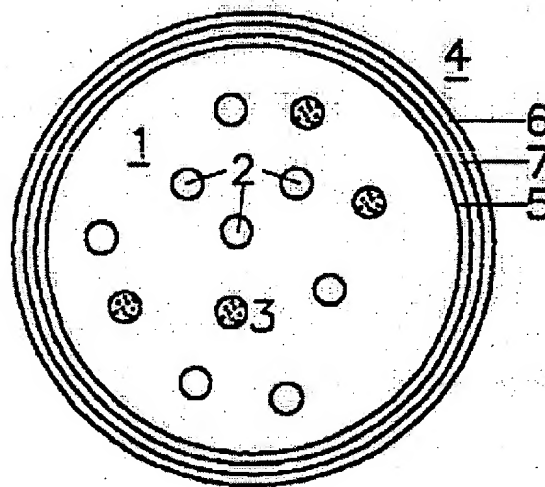


Fig. 2

Bioactive capsule has multi-layered sheath of variable porosity**Publication number:** DE19519804**Publication date:** 1996-12-05**Inventor:** SCHREZENMEIR JUERGEN DR (DE);
POMMERSHEIM RAINER DIPL ING (DE); VOGT
WALTER DR (DE)**Applicant:** SCHREZENMEIR JUERGEN DR (DE);
POMMERSHEIM RAINER DIPL ING (DE); VOGT
WALTER DR (DE)**Classification:****- international:** A61K9/48; A61K9/50; A61K9/52; B01J13/02;
C12N11/04; A61K9/48; A61K9/50; A61K9/52;
B01J13/02; C12N11/00; (IPC1-7): C12N11/04;
A61K9/48; B01J13/02**- european:** A61K9/48Z; A61K9/50K; B01J13/02; C12N11/04**Application number:** DE1951019804 19950531**Priority number(s):** DE1951019804 19950531**Also published as:** EP0782853 (A2)
 EP0782853 (A3)
 EP0782853 (B1)[Report a data error here](#)**Abstract of DE19519804**

Bioactive capsule, esp. for installation in a living tissue or for biotechnical use, has a core which contains living cells and/or enzymes and a multi-layered sheath which completely encloses the core. The sheath consists of a porous mesh of flocculated macromolecules. The novelty is that at least 1 layer (7) of the sheath is dissolved or eroded by the action of ionic concn., physical size and/or reagents, causing pores in the structure of the sheath to open, close or change in dia. The max. passage width of the pores is larger than or the same size as the largest cells or enzymes enclosed in the core, to allow them, or their molecular prods., to pass through the sheath.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide